

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Etiologia e Fisiopatologia da Perturbação do Espectro do Autismo – Revisão Narrativa da Literatura

Catarina Isabel Rio Ferreira

JUNHO'2020



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Etiologia e Fisiopatologia da Perturbação do Espectro do Autismo – Revisão Narrativa da Literatura

Catarina Isabel Rio Ferreira

Orientado por:

Dra. Sofia Mendes Quintas

JUNHO'2020

Resumo

As perturbações do espectro do autismo (PEA) são um conjunto heterogêneo de condições do neurodesenvolvimento, caracterizadas por dificuldades na comunicação social, bem como comportamentos e interesses repetitivos e restritivos de instalação precoce. A etiologia desta patologia é multifatorial e culmina num desenvolvimento cerebral atípico, determinando uma elevada heterogeneidade clínica. Esta revisão da literatura tem como objetivos analisar as diversas etiologias possíveis e os mecanismos fisiopatológicos que provocam alterações do neurodesenvolvimento nos indivíduos afetados. Relativamente à metodologia, foi feita uma pesquisa de artigos nos motores PubMed e Medline (utilizando as palavras-chave “autism”, “autism spectrum disorder”, “ASD”, “etiology”, “genes”, “connectivity”, “neurobiology” e “default mode network”), assim como consulta de livros de texto e *websites* relevantes. Sendo a etiologia da PEA multifatorial, os fatores contribuintes são mutações genéticas (incluindo dos genes *PTEN*, *MECP2* e *CHD8*, por exemplo), alterações epigenéticas, modificações do ambiente e disfunções imunológicas (diferenciadas em modificações pré- e pós-natais). Relativamente aos mecanismos fisiopatológicos, são frequentes alterações de vias de sinalização celular (RAS/ERK, PI3K/AKT, WNT e β -catenina) e de vários neurotransmissores, com impacto negativo no neurodesenvolvimento e na sintomatologia. Os diversos insultos sofridos resultam em modificações cerebrais: conetividade de longa-distância deficitária e aumento tendencial da conetividade local; alterações na matéria branca, especialmente no corpo caloso, fascículos longitudinal superior, longitudinal inferior, occipitofrontal e uncinado, e giro cingulado; alterações no córtex, cerebelo e *default mode network*. Além disso, as atipias cerebrais sugerem ter uma variação com a idade, havendo um crescimento cefálico anormalmente aumentado nos primeiros anos de vida, seguido de posterior regressão em idades mais avançadas. Assim, a melhor compreensão dos mecanismos etiológicos e fisiopatológicos da PEA permite um conhecimento aprofundado e individualizado dos sintomas, um diagnóstico mais preciso e, no futuro, uma abordagem terapêutica possivelmente mais eficaz e antecipada.

Palavras-chave: PEA, etiologia, genética, neurotransmissores, neurodesenvolvimento.

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

Abstract

The autism spectrum disorders (ASD) are a heterogeneous set of neurodevelopmental conditions, characterized by impairments in social communication, as well as repetitive and restrictive behaviors and interests of early onset. The etiology of this disorder is multifactorial and culminates in atypical brain development, thus determining a high clinical heterogeneity. The present literature revision aims to analyze the diverse possible etiologies and the physiopathological mechanisms underlying the neurodevelopmental alterations in affected individuals. Referring to the methodology, an article search was done in PubMed and Medline search engines (using the keywords “autism”, “autism spectrum disorder”, “ASD”, “etiology”, “genes”, “connectivity”, “neurobiology” and “default mode network”), along with the consultation of textbooks and relevant websites. Given that the etiology of ASD is multifactorial, the contributing factors are genetic mutations (including *PTEN*, *MECP2* and *CHD8* genes, for example), epigenetic alterations, environmental modifications and immunological disfunctions (distinguished between pre and postnatal modifications). Referring to the pathophysiological mechanisms, cell signaling pathways (RAS/ERK, PI3K/AKT, WNT and β -catenin) and several neurotransmitter alterations are frequent, negatively impacting on the neurodevelopment and symptomatology. The various suffered insults result in cerebral modifications: long-range underconnectivity and tendential short-range overconnectivity; changes in white matter, especially the corpus callosum, superior and inferior longitudinal fasciculi, occipitofrontal and uncinate fasciculi and cingulum; modifications in the cortex, cerebellum and default mode network. Moreover, the cerebral changes seem to be age-related, with an abnormally enlarged head growth in the first years, followed by regression in older ages. Therefore, a more comprehensive understanding of the etiological and physiopathological mechanisms of ASD allows for a broader and more individualized knowledge of the symptoms, a more accurate diagnosis and, in the future, possibly an earlier and more effective therapeutic approach.

Keywords: ASD, etiology, genetics, neurotransmitters, neurodevelopment.

The Final Work expresses the opinion of the author and not FML.

Índice

1. Lista de Siglas e Abreviaturas	6
2. Introdução	7
3. Métodos	8
4. Etiologia e Fisiopatologia da Perturbação do Espectro do Autismo	9
4.1. Etiologia – Genética e Epigenética	9
4.2. Modificações nas Vias de Sinalização Celular	11
4.3. Variações nos Neurotransmissores	12
4.4. Impacto de Processos Imunológicos	15
4.5. Variabilidade do Crescimento Cerebral ao Longo do Desenvolvimento	17
4.6. Anomalias na Conetividade e Desenvolvimento Cerebrais	18
5. Conclusão	23
6. Agradecimentos	24
7. Referências	24
8. Anexos	31

1. Lista de Siglas e Abreviaturas

aCPI	Célula progenitora intermediária que se diferencia em astrócito
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CGR	Células precursoras gliais radiais
CNV	Variação do número de cópias
CPI	Célula progenitora intermediária
D1R	Recetor da dopamina D1
D2R	Recetor da dopamina D2
DAT	Transportador de dopamina
DC:0-5	Diagnostic Classification of Mental Health and Developmental Disorders of Infancy and Early Childhood
DMN	Default mode network
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DTI	Imagem por tensor de difusão
FA	Anisotropia fracionada
H1R	Recetor da histamina, subtipo 1
H2R	Recetor da histamina, subtipo 2
H3R	Recetor da histamina, subtipo 3
ICD 11	International Classification of Diseases, 11 th Revision
IFOF	Fascículo occipitofrontal inferior
ILF	Fascículo longitudinal inferior
M-CHAT – R/F	Modified Checklist for Autism in Toddlers – Revisto com entrevista de seguimento
MD	Difusibilidade média
MIA	Ativação materna imunológica
mPFC	Córtex pré-frontal medial
nAChR	Agonista para o recetor nicotínico-colinérgico
nCPI	Célula progenitora intermediária que se diferencia em neurónio
oCPI	Célula progenitora intermediária que se diferencia em oligodendrócito
PCC	Córtex cingulado posterior
PEA	Perturbação do espectro do autismo
SLF	Fascículo longitudinal superior
SNP	Polimorfismos de nucleótido único
SSRI	Inibidores seletivos da recaptação da serotonina
TPJ	Junção temporoparietal

2. Introdução

Segundo o DSM-5, a definição de perturbação do espectro do autismo (PEA) consiste em défices persistentes na comunicação social e interações sociais recíprocas; associado a padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades.^{5,7} É considerada como um espectro, estando subdividida por níveis de gravidade, que determinam o tipo de apoio que a criança necessita.^{1,2} Segundo o Center for Disease Control and Prevention (CDC), no ano de 2016, a prevalência da PEA nos EUA é de 1 em 54 crianças com 8 anos de idade. Esta patologia afeta 4,3 vezes mais o sexo masculino.^{13,14,17}

As manifestações clínicas da PEA podem surgir a partir dos 6 meses de idade em algumas crianças e, normalmente, estão presentes antes dos 3 anos. Estas persistem ao longo da vida.^{8,10,11} O sintoma inicial mais frequentemente reconhecido pelos pais é o atraso ou anormal desenvolvimento da linguagem, embora possam estar presentes outros sintomas, visto existir heterogeneidade clínica nesta patologia.^{12,18} Além disso, cerca de 70% das pessoas com PEA apresentam doenças médicas, do desenvolvimento ou psiquiátricas concomitantes.¹ O prognóstico agrava-se com a presença destas comorbilidades e com a precocidade do seu aparecimento.^{2,6,23}

Relativamente à vigilância e rastreio das perturbações do espectro do autismo, uma das ferramentas mais amplamente utilizadas é o M-CHAT - R/F, que consiste num breve questionário sobre o desenvolvimento e comportamento em crianças dos 16 aos 30 meses.^{19,25} O diagnóstico é clínico, pelo que não estão disponíveis quaisquer exames laboratoriais, genéticos, de imagem ou outros que permitam fazer o diagnóstico.^{2,13} Assim, é feita a avaliação de conjuntos de sinais e sintomas agrupados em áreas semiológicas.^{19,24} Estão disponíveis algumas ferramentas, mas nenhuma permite estabelecer o diagnóstico quando usada de forma isolada.^{21,26} A confirmação diagnóstica de PEA tem de incluir o cumprimento de critérios bem estabelecidos por um sistema de classificação.² Pode ser aplicado o DC:0-5 (para idades iguais ou inferiores a 5 anos), o DSM-5, 299.08 ou o ICD 11, 6A02 (ambos podem ser usados em qualquer idade).²⁴

É importante que o diagnóstico seja feito o mais precocemente possível, por forma a iniciar a intervenção adequada e melhorar o prognóstico.²⁷ Isto verifica-se, porque as PEA podem ter início ainda na vida intrauterina e manifestam-se precocemente na vida.²⁸ Têm uma etiologia multifatorial, que culmina em alterações das vias de

sinalização celular, de neurotransmissores e do desenvolvimento cerebral. Nos últimos anos, tem havido crescente investigação sobre as PEA, especialmente os mecanismos que desencadeiam as modificações do neurodesenvolvimento, focando em diversas áreas e idades do desenvolvimento. O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão da literatura narrativa sobre as várias etiologias explicativas desta patologia, assim como os mecanismos fisiopatológicos que culminam no neurodesenvolvimento alterado dos indivíduos afetados. Desta forma, é possível uma melhor compreensão da doença e encará-la como um processo ininterrupto, variável de indivíduo para indivíduo e que resulta em diferentes fenótipos clínicos.^{27,29,30}

3. Métodos

A informação para esta revisão narrativa da literatura foi adquirida através da pesquisa de artigos publicados nos motores de pesquisa PubMed e Medline, entre os anos 2006 e 2020, em inglês e português. As palavras-chave utilizadas foram: “autism”, “autism spectrum disorder”, “ASD”, “etiology”, “genes”, “connectivity”, “neurobiology” e “default mode network”. Os artigos foram ordenados nos motores de pesquisa por “melhor correspondência”, tendo sido selecionados através da leitura dos respetivos *abstracts*. Também foram incluídos artigos que estavam referenciados na bibliografia de outros. Os estudos incluídos foram *systematic review*, *scientific reports*, *review article*, *research article*, *guideline* e *author manuscript*. Além disso, foram consultados livros de texto e alguns *websites* de relevo nesta patologia.

4. Etiologia e Fisiopatologia da Perturbação do Espectro do Autismo

A PEA é uma patologia compreendida de forma incompleta, não existindo nenhuma etiologia específica cuja modificação culmine invariavelmente no seu surgimento. No entanto, as várias alterações possíveis tornam-na numa doença que resulta de insultos multifatoriais dinâmicos em diferentes fases do desenvolvimento, que precedem e produzem heterogeneidade fenotípica. As mutações genéticas, alterações epigenéticas e fatores de risco imunológicos são as etiologias que condicionam as alterações fisiopatológicas desta patologia.^{10,19,31} As modificações do desenvolvimento cerebral subsequentes podem iniciar-se na vida intrauterina, podendo afetar as diferentes etapas da diferenciação dos precursores celulares em neurónios e glia (anexo 1). Ocorrem também alterações de várias vias de sinalização celular (cujas funções no desenvolvimento cerebral estão discriminadas no anexo 2), assim como de neurotransmissores (no anexo 3 estão descritas as funções de cada um). Além disso, na PEA, verificam-se atipias em áreas cerebrais relevantes para a aprendizagem social e comportamental (estando as principais referidas no anexo 4).

As alterações fisiopatológicas da PEA podem ser agrupadas ainda em morfológicas, funcionais e bioquímicas, estando estas interligadas. Modificações bioquímicas nas vias de sinalização mais relevantes e nos diferentes neurotransmissores traduzem-se nas respetivas alterações funcionais (tanto excesso de ativação como inibição), que, por sua vez, impactam nas alterações morfológicas ao longo do neurodesenvolvimento e no próprio cérebro já formado dos indivíduos afetados, assim como na conectividade funcional entre diversas regiões.

4.1. Etiologia – Genética e Epigenética

Vários estudos em gémeos sugerem que a perturbação do espectro do autismo tem uma elevada hereditariedade.^{1,2,16} Esta depende de fatores de risco ambientais, da relação entre os genes e o ambiente, e de mecanismos epigenéticos. Não só se verifica uma grande heterogeneidade de *loci* afetados (estando, até ao presente, mais de 900 genes implicados), como também muitas das variantes genéticas são pleiotrópicas.^{1,28,32} Tanto as mutações genéticas raras como as variantes comuns são importantes. As primeiras podem ocorrer na forma de síndromes genéticas mendelianas; anomalias de cromossomas; mutações *de novo*; variantes de nucleótido único transmitidas; e variação do número de cópias (CNV), com expressão e penetrância variáveis.¹ No entanto,

nenhuma das mutações identificadas por si só é encontrada em mais do que aproximadamente 1% dos indivíduos com PEA, reforçando a hipótese de esta ser uma patologia com heterogeneidade genética.¹⁶ Em termos das variantes comuns, como os polimorfismos de nucleótido único (SNP), estas também representam um papel importante no autismo. Contudo, nenhum SNP isoladamente tem efeito significativo suficiente para poder ser designado de causal. Ainda assim, os indivíduos podem ter vários SNP, que representam fatores de risco aditivos.¹ De uma forma geral, são vários os genes associados à PEA que estão envolvidos em processos de plasticidade sináptica, recetores, ciclo celular, moléculas/proteínas de adesão celular (que estão implicadas na organização de cromatina, transcrição, tradução e modificações pós-traducionais, síntese ou degradação de proteínas) e dinâmica do citoesqueleto de actina.^{1,19,28}

A maior parte dos genes associados à PEA tem o pico de expressão pré-natal (particularmente no primeiro e segundo trimestres da gravidez). Em cada pessoa, variações de como e quando estas vias pleiotrópicas são desreguladas leva a diferentes efeitos e heterogeneidade clínica e de desenvolvimento neuronal. Uma grande percentagem dos genes afeta pelo menos um dos quatro principais processos do desenvolvimento cerebral: proliferação e neurogénese (por exemplo, os genes *PTEN*, *MECP2*, *CHD8*, *ARID1B* e o *locus* 16p11.2); especificação celular e migração neuronal (como os genes *MECP2*, *KAT2B*, *RELN* e *FOXG1*); crescimento de dendrites e axónios (por exemplo, os genes *SHANK3*, *FMRI*, *CTNND2*, *SYNGAP1* e *MECP2*); função sináptica e sinaptogénese (como *CHD8*, *PTEN*, *ARID1B* e *NFI*). As mutações nos genes com maior expressão pré-natal têm um impacto mais significativo na proliferação e neurogénese, enquanto nos restantes (com pico de expressão no terceiro trimestre da gravidez e primeiros anos da vida pós-natal) a função sináptica e sinaptogénese estão alteradas mais comumente. No anexo 5, encontra-se discriminado como alguns genes influenciam um ou mais dos processos do desenvolvimento neuronal.^{16,28,33}

Em termos genéticos, existe uma outra diferenciação relevante, em dois subgrupos: a PEA que ocorre no contexto de uma síndrome clinicamente definida; a PEA que ocorre como uma manifestação de uma síndrome definida molecularmente. O primeiro subgrupo mencionado tem uma elevada complexidade fenotípica, pois existem mutações genéticas responsáveis por síndromes clínico-genéticas bem individualizadas que, para além das manifestações típicas, podem estar associadas simultaneamente à PEA. Nestes casos, a confirmação da suspeita diagnóstica através da investigação genética é dirigida por características dos doentes que não as típicas da PEA.⁴ Estes

genes incluem: mutações no gene *FMRI* (responsável pela síndrome do X frágil); o gene *PTEN* (associado a diferentes patologias com características sobreponíveis, como as síndromes de Cowden, Bannayan-Riley-Ruvalcaba, Proteus relacionada com *PTEN* e macrocefalia-autismo. O doente com qualquer uma destas condições é considerado ter a síndrome do tumor *PTEN*-hamartoma); o gene *MECP2* (responsável pela síndrome de Rett); mutações no gene *NFI* (causa a neurofibromatose do tipo 1).^{4,9}

O outro subgrupo corresponde a mutações genéticas que estão associadas somente à PEA. Não é tão facilmente identificado clinicamente, porque as manifestações somáticas de uma mutação genética específica variam significativamente e porque é frequente que o número de casos reportados que tenham informação clínica suficiente seja reduzido. Assim, as variantes são identificadas por testes genómicos (mais abrangentes), ao invés de derivarem de hipóteses clínicas definidas.^{4,9}

4.2. Modificações nas Vias de Sinalização Celular

As vias de sinalização celular que têm mais forte associação com a PEA são as vias RAS/ERK, PI3K/AKT, WNT e β -catenina, podendo a sua função ser controlada por diversos genes. As respetivas modificações impactam em várias fases do desenvolvimento cerebral (tabela 1).²⁸

A determinação da quantificação de neurónios e o equilíbrio entre a neurogénese e formação de glia dependem de vários fatores envolvidos no desenvolvimento cerebral. O controlo entre a reentrada no ciclo celular e a respetiva saída/diferenciação constitui um fator relevante para a determinação da quantidade neuronal. Um dos mecanismos que mais precocemente regula estas divisões celulares é o ritmo de progressão do ciclo celular, particularmente a transição entre as fases G1 e S. As divisões celulares simétricas estão associadas a transições G1/S menos prolongadas, que se verifica frequentemente na PEA, provocando desregulação da proliferação e macrocefalia. As vias de sinalização celular também são outro fator-chave que regula a divisão celular e consequentemente a neurogénese. Nas CGR, a ampliação das vias PI3K/AKT, WNT e β -catenina ou a diminuição da via RAS/ERK leva a elevada proliferação celular. Porém, o seu papel inverte-se na fase de CPI: a inibição de PI3K/AKT e WNT estimula a diferenciação prematura de neurónios; e a atividade de RAS/ERK reduz a neurogénese das CPI e aumenta a formação de astrócitos.^{28,38,39,40}

Relativamente à modificação da via RAS/ERK devido a mutações genéticas específicas, podemos considerar, por exemplo, as mutações deletérias no *locus* 16p11.2,

uma das CNV mais recorrentes na PEA. Este *locus* e o gene *ERBIN* inibem parcialmente esta via de sinalização, culminando na diminuição de síntese proteica e alterações cognitivas. Em termos da via PI3K/AKT, as mutações no gene *PTEN* resultam em aumento da sua atividade e, consecutivamente, em proliferação desregulada das CGR, crescimento cortical aumentado e ampliação de sinapses. Mutações no gene *FMR1* têm o mesmo efeito, com aumento da sinaptogénese e conectividade dos neurónios, enquanto mutações nos genes *MECP2* e *SHANK3* suprimem-na, levando a atraso no desenvolvimento da medula espinhal e redução da amplitude sináptica. Mutações somáticas nos genes *RELN* e *FOXG1* ativam por excesso a via PI3K/AKT, resultando em hemimegalencefalia e displasia cortical focal, com dismorfia de neurónios e perda da orientação neuronal radial. Outros genes, por outro lado, afetam mais do que uma só via: o *CHD8* interfere nas vias WNT e β -catenina (causando, entre outros, redução da transição G1/S e aumento do volume cerebral); a supressão do *ARID1B* atrasa a reentrada no ciclo celular e diminui IGF1, um mediador das vias PI3K/AKT e β -catenina, resultando em restrição da arborização dendrítica e modificação da transmissão sináptica. A ativação das vias WNT e β -catenina pode ainda resultar em alterações da migração neuronal por modificação da polaridade das células precursoras.^{28,37,42,43,44}

4.3. Variações nos Neurotransmissores

São vários os neurotransmissores que estão implicados na fisiopatologia da PEA, uma vez que a disrupção de genes codificadores de múltiplas proteínas pode afetar os neurotransmissores respetivos e o desenvolvimento cerebral inicial.

Acetilcolina

A diminuição nos níveis de colina, no agonista para o recetor nicotínico-colinérgico (nAChR) e nos recetores muscarínicos M1, assim como irregularidades anatómicas no número e estrutura dos neurónios colinérgicos são alterações descritas na PEA, sendo que a gravidade dos sintomas está inversamente relacionada com os valores de acetilcolina. Geneticamente, podem ocorrer mutações nos genes *CHRNA7* e *CHRNA2*. Globalmente, a disrupção da neurotransmissão colinérgica relaciona-se com a PEA ao cursar com défices sociais, comportamentos repetitivos, atenção reduzida e flexibilidade cognitiva diminuída. Como alvo terapêutico, já foram feitos estudos em crianças com PEA sobre os inibidores da acetilcolinesterase, como a rivastigmina e galantamina.

Poderá haver melhoria dos sintomas desta patologia, incluindo irritabilidade e comportamentos sociais, pelo que deve ser continuada a investigação sobre a melhoria da neurotransmissão colinérgica na PEA.^{10,49}

Dopamina

As alterações comportamentais em modelos de roedores decorrentes do aumento dopaminérgico são bloqueadas usando os antagonistas dos recetores D1 (D1R). A inibição dos D2R devido a *knockout* genético no corpo estriado mostra replicar os fenótipos da PEA em roedores também. Para além dos recetores, os estudos demonstraram que estão implicadas mutações nos genes associados à proteína transportadora de dopamina (DAT) e enzimas da biossíntese de dopamina. Um deles é o gene *SLC6A3*, cujas mutações alteram proteínas importantes para a homeostasia dos níveis de dopamina cerebrais. Além disso, as fibras dopaminérgicas provenientes da área tegmental ventral têm projeções para o córtex pré-frontal e para regiões do sistema límbico, formando a via mesolímbica. Esta está envolvida em funções cerebrais superiores (como emoções, sistema de recompensa, motivação e cognição). Tendo em consideração as funções do sistema dopaminérgico, as suas alterações têm impacto relevante para o comportamento social, competências em atenção, perceção e atividade motora.^{10,50}

Histamina

Foram reportadas alterações na enzima HNMT, responsável pelo metabolismo da histamina central e pelos subtipos 1 a 3 do recetor da histamina (H1R, H2R e H3R). Os H3R cerebrais podem funcionar como auto ou hetero-recetores que regulam a biossíntese e libertação de histamina e vários outros neurotransmissores, como a dopamina, serotonina, GABA e glutamato. O aumento da histamina derivado destas modificações tem impacto na cognição, aprendizagem, memória e comportamentos na PEA. O sistema histaminérgico pode também ser um potencial alvo terapêutico. Os antagonistas de H3R seletivos podem levar a melhorias dos sintomas cognitivos, tendo também atividade antioxidante.¹⁰

Melatonina

É frequente a concentração de melatonina estar reduzida durante a noite, bem como haver atraso no pico da melatonina e redução da sua amplitude. Em alguns casos, também pode existir uma tendência para esta estar elevada durante o dia. Em termos genéticos, a maior parte dos estudos mostra que podem ocorrer variantes genéticas raras

modificadoras da síntese (quebra da atividade dos genes *AANAT* e *ASMT*), metabolismo e mecanismo de ação da melatonina, como os genes *MTNR1A*, *MTNR1B* e *GPR50*. Estas alterações correlacionam-se com a maior gravidade de sintomas comunicacionais e comportamentais na PEA. Além disso, estão associadas às perturbações do sono e do ritmo circadiano, nomeadamente a insónia e sonolência diurna. Atualmente, a melatonina já é usada como fármaco no contexto da PEA, sendo um alvo que tem efeitos benéficos no sono e sintomas autistas.^{5,31,51}

Serotonina

A PEA está associada a valores plasmáticos de serotonina elevados em parte dos indivíduos afetados. Em modelos animais, a hiperserotonemia reduz significativamente a motivação para o interesse social devido à inibição da ansiedade de separação. Além disso, também já foi descrito que a hiperserotonemia leva a hipersensibilidade dos recetores cerebrais de 5-HT 1A e 2A, défices sociais e comportamentos repetitivos. Em termos genéticos, polimorfismos na região 17q11.2, incluindo o gene *SLC6A4*, estão presentes na PEA. Hoje em dia, a serotonina é um alvo de estudo terapêutico relevante e já são recomendados inibidores seletivos da recaptção da serotonina (SSRI) em situações de comorbilidade com ansiedade, depressão e perturbação obsessiva compulsiva.^{10,52,53}

Sistema GABAérgico e Glutamato

Na PEA, um dos mecanismos importantes para a sua fisiopatologia é a disrupção do equilíbrio excitatório/inibitório da neurotransmissão nos neurónios pós-sinápticos. Esta pode ocorrer por mutações nas proteínas envolvidas no desenvolvimento normal e na função sináptica do GABA. Logo, mutações nos genes codificadores destas proteínas resultam em défices da sinalização inibitória do GABA. Por exemplo, por deleções no gene *CNTNAP2*, decorre a redução dos interneurónios inibitórios e defeitos na sinalização inibitória, sugerindo a associação entre mutações que afetam a função do GABA e da PEA. São também vários os genes envolvidos no funcionamento de subunidades dos recetores GABA, como *GABRB3*, *GABRA5* e *GABRG3*. Além disso, diminuição da expressão de outros genes relevantes para os interneurónios GABA, genes recetores de GABA-A e enzimas de biossíntese deste neurotransmissor (GAD 65 e GAD 67) no cerebelo e córtex parietal são alterações implicadas nestes indivíduos. Por outro lado, os recetores AMPA e NMDA do neurotransmissor excitatório glutamato e as proteínas transportadoras de glutamato apresentam valores elevados nesta

patologia. Assim, a expressão aumentada de genes relacionados com o glutamato e/ou diminuída dos genes de GABA podem ser associadas a vários fenótipos clínicos da PEA, incluindo défices cognitivos, hiperatividade e epilepsia. Particularmente, o défice da sinalização GABA no córtex cerebral sugerem que estes ocorrem precocemente no desenvolvimento cerebral, levando potencialmente a desequilíbrios persistentes excitatórios/inibitórios e alteração da conectividade cerebral nesta patologia. O excesso de neurónios excitatórios, por sua vez, altera o desenvolvimento de dendrites e afeta a distribuição laminar de interneurónios.^{37,48,54}

4.4. Impacto de Processos Imunológicos

A disfunção imunológica constitui um importante fator de risco contribuinte para os défices do neurodesenvolvimento na PEA. Podemos diferenciar dois períodos: pré-natal e pós-natal.⁴⁷

Iniciando pelo primeiro, relativamente às infeções congénitas, vários estudos relataram uma maior incidência de PEA em crianças com infeção congénita por rubéola, sarampo, parotidite epidémica, citomegalovírus e poliomavírus. As infeções bacterianas maternas também podem constituir risco aumentado para o neurodesenvolvimento alterado. Devido à multiplicidade de infeções associadas à PEA durante a gravidez, a investigação sugere que a resposta materna à infeção é mais relevante para o surgimento da PEA do que o agente patogénico específico. A ativação materna imunológica (MIA), que ocorre durante a gravidez e é subsequente a infeções, é um dos modelos mais relevante que corrobora esta hipótese e está associado a modificações socio-comportamentais e do neurodesenvolvimento. Relativamente aos mecanismos que medeiam as alterações cerebrais pelo modelo MIA, os estudos reportam diferentes citocinas envolvidas, implicadas ao longo do desenvolvimento do sistema nervoso central. Podemos considerar, então, aumento de: citocina pró-inflamatória IL-6; IL-17 (a IL-6 elevada estimula a sua produção); TNF- α ; IL-1 β ; IFN- γ ; IL-4; e IL-5. Além disso, as citocinas inflamatórias relacionadas com a PEA podem atuar por um ou mais dos seguintes mecanismos: materno (as citocinas maternas atravessam a placenta); placentário (a MIA leva a inflamação e produção de citocinas na placenta); fetal (a MIA leva a desregulação imune e genética no próprio feto). Ainda no período pré-natal, também pode ter impacto a passagem de autoanticorpos maternos para o cérebro do feto, que atuam contra o mesmo. A presença destes anticorpos não é um fenómeno transiente, podendo persistir por vários anos. Estes reagem a diferentes proteínas no

cérebro fetal, incluindo LDH (-A e -B), STIP1, CRMP1 e YBX1 (localizam-se nas bandas 37, 73 e 39 kDa de proteínas). Nos estudos em animais, a sua presença conduz a proliferação aumentada das CGR, volume do cérebro maior, maior tamanho neuronal e sintomas socio-comportamentais.^{10,28,33,47}

Relativamente ao período pós-natal, deve ser tido em consideração o papel de autoanticorpos contra o cérebro da própria criança, distintos dos maternos já referidos. Estes podem afetar diferentes áreas cerebrais, resultando numa maior gravidade dos sintomas da PEA e maior défice intelectual. Os fatores imunogenéticos também são fatores de vulnerabilidade importantes para esta patologia, sendo que a rede de interações genéticas provavelmente leva a desregulação imunológica persistente. Está incluído o aumento da expressão de: alelos da família *HLA*, especialmente os genes *HLA-DRB1*, *HLA-A*01*, *A*02* e *B*07*, e *HLA-G*; o oncogene *MET* (que é importante para a migração neuronal durante o desenvolvimento do cerebelo e do córtex, funcionando como regulador imunológico negativo das células apresentadoras de antígeno). Os genes relevantes para a imunidade podem ser classificados em 6 classes: resposta imunológica de antígenos específicos; inflamação; morte celular; doenças autoimunes; migração; e via das células T NK. Por último, deve ser destacado o impacto da desregulação imunológica. Ocorre disfunção das populações celulares, nomeadamente redução das células T helper CD4⁺, CD25, CD134 e T citotóxicas CD8⁺. Relativamente às células NK, os estudos referem expressão genética mais elevada e diminuição da sua atividade na adolescência e vida adulta (a atividade citolítica é já máxima por base, não respondendo a estimulação), sem necessariamente haver redução da contagem total de células. Em termos das imunoglobulinas, verifica-se redução dos níveis plasmáticos de IgG (com diminuição da IgG1 e aumento da subclasse IgG4) e IgM, podendo a idade das crianças ter impacto nos valores de imunoglobulinas. Além disso, ocorre na vida pós-natal alterações das citocinas e quimiocinas. Foram descritos aumentos tanto nas respostas celulares Th1 (IL-1RA e IFN- γ) como nas Th2 (nem sempre foram consistentes os aumentos de IL-4 e IL-5), tendo sido reportada predominância da resposta Th1. Assim, existe um ambiente pró-inflamatório que pode cursar com maior gravidade da PEA. Também se verificou aumento da citocina pró-inflamatória IL-6, da IL-8, IL-12p40, GM-CSF e TNF- α . Apesar das modificações imunológicas pré- e pós-natais não estarem presentes em todos os doentes, é importante continuar a investigação, por forma a compreender os diversos subgrupos de alterações na PEA e investigar possíveis alvos de intervenção.^{1,10,16,47}

4.5. Variabilidade do Crescimento Cerebral ao Longo do Desenvolvimento

O volume cerebral na perturbação do espectro do autismo varia substancialmente durante o desenvolvimento. Os estudos realizados sobre o crescimento cerebral fetal sugerem que não existem diferenças significativas no perímetro cefálico fetal e imediatamente após o parto em indivíduos que mais tarde são diagnosticados com PEA, quando comparados com a população controlo. No entanto, é provável que já ocorram alterações do neurodesenvolvimento mais discretas nesta fase.^{37,55} A proliferação, neurogénese e migração celular iniciam-se no primeiro trimestre; o crescimento de dendrites e axónios, sinaptogénese e função sináptica começam no segundo trimestre de gestação; a formação da rede neural e respetivo funcionamento inicia-se no terceiro trimestre. Estes processos prolongam-se depois do nascimento também, podendo ser alterados em distintas fases.²⁸

Por outro lado, o crescimento cerebral após os 6-12 meses de vida já demonstra ter um aumento precoce do perímetro e peso cefálicos.^{28,55} De facto, há uma cascata de alterações que ocorrem previamente e concomitantemente à emergência dos sintomas sociais inerentes à patologia. Ocorre primeiramente um aumento da proliferação das CPI, seguido de expansão exacerbada da área superficial cortical, que se inicia entre os 6 e 12 meses de idade. Existe depois disrupção das experiências sensoriomotoras ou de atenção, assim como alteração do desenvolvimento neuronal dependente de experiências. Verifica-se, de seguida, uma eliminação reduzida dos processos neuronais. Todas estas modificações culminam no crescimento aumentado do volume cerebral, dos 12 aos 24 meses, e disrupção da conectividade e emergência dos défices sociais da PEA. As modificações do volume cerebral total entre os 12 e 24 meses estão associadas a maior gravidade dos sintomas sociais relacionados com o autismo aos 24 meses.^{1,37} Porém, um subgrupo de indivíduos com PEA não tem alterações ou apresenta diminuição do crescimento cerebral.²⁸

Em idades mais avançadas é frequente verificar-se uma tendência oposta. Sendo assim, os estudos revelam uma diminuição da espessura cortical, que sugere um período de regressão dinâmica, neurobiológica e de desenvolvimento na PEA, nos anos mais avançados da infância e que se prolongam até à vida adulta. Todavia, a velocidade e o tipo de modificações que ocorrem são variados, sendo dependentes da expressão genética e molecular, composição sináptica, características celulares e influência de processos inflamatórios, entre outros.^{37,56}

4.6. Anomalias na Conetividade e Desenvolvimento Cerebrais

A Conetividade Cerebral e Relação com Matéria Branca

Os feixes de axónios de matéria branca formam a base estrutural para a conetividade cerebral ao estabelecerem a interligação entre regiões específicas da substância cinzenta, formando circuitos neuronais integrados. Além disso, a conetividade dos tratos axonais regula a velocidade e o momento adequado de ativação nas diferentes redes neuronais, por forma a ter sincronização de informações veiculadas, processamento de informação e resposta cerebral otimizados.^{16,59} O corpo caloso é uma área cerebral importante que permite avaliar funcionalmente a perda de conetividade de longa-distância axonal do córtex cerebral que se verifica na PEA. Nas pessoas com neurodesenvolvimento adequado, a percentagem de axónios de pequeno diâmetro é máxima em SI, enquanto a percentagem de axónios de médio e grande diâmetro e a área axonal aumentam nas porções média e caudal do corpo caloso. O diâmetro dos axónios correlaciona-se com a maior velocidade e volume de transmissão de sinais.²⁷

Uma das alterações das conexões do corpo caloso na PEA é a redução da conetividade inter-hemisférica, que pode ser devida a agenesia focal e hipoplasia difusa. Há redução da área transversal axonal média, do número total de axónios e do tamanho neuronal acompanhada de diminuição do diâmetro médio axonal nos diversos segmentos. Verifica-se, contudo, um aumento na percentagem relativa de axónios de pequeno diâmetro em todos os segmentos, particularmente nos posteriores. Assim, pode-se verificar que, na PEA, há uma perda da diversidade estrutural e funcional do diâmetro axonal no corpo caloso, que se reflete em perda de diferenciação das conexões de segmentos cruciais para o funcionamento cortical normal.^{27,61,62}

As alterações da conetividade cerebral, para além do corpo caloso, afetam outras fibras de associação inter-hemisféricas, tão cedo quanto os 6 meses de idade.^{37,57} Alterações nas diferentes vias do SLF afetam as suas funções, principalmente cognitivas, incluindo a atenção, processamento de linguagem, controlo inibitório e processamento visuo-espacial.⁶⁴ Modificações no ILF impactam no processamento e modulação de informações visuais, que envolvem a área occipital da face, a área fusiforme da face, o sulco temporal superior e a amígdala.⁶⁵ As conexões do IFOF correspondem à distribuição espacial de estruturas envolvidas na cognição social, incluindo o giro fusiforme, amígdala, sulco temporal superior, córtex pré-frontal ventromedial, junção temporoparietal e córtices somatossensoriais. Este fascículo é

importante para o controlo de ações, reconhecimento de faces e perceção de expressões faciais, que estão relacionados com os sintomas sociais da PEA.⁶³ Por sua vez, alterações no fascículo uncinado influenciam a conexão entre a região de processamento de emoções básicas e a área envolvida no processamento de ordens superiores.⁵⁹ O giro cingulado é relevante para funções emocionais e sociais relacionadas com a sintomatologia típica da PEA. O desenvolvimento atípico das suas fibras e da sua comunicação com o córtex pré-frontal medial pode resultar em anomalias funcionais encontradas nesta região, como o *default mode network*.^{48,57,66}

Por forma a compreender como os feixes de matéria branca estão alterados na PEA, recorre-se ao uso de diversas técnicas de neuroimagiologia, como a imagem por tensor de difusão (DTI).^{57,67} Os seus resultados são medidos através da análise da anisotropia fracionada (FA) e da difusibilidade média (MD).^{63,64} Foi descrita redução dispersa da FA, assim como aumento da MD nos vários fascículos mencionados, incluindo o corpo caloso. Os resultados foram interpretados como indicativos de conectividade da matéria branca globalmente reduzida.⁵⁷ Porém, a redução da FA não foi descrita consistentemente, podendo estas discrepâncias ser devidas a vários fatores.^{57,64} Por exemplo, a alteração da FA pode ter uma inversão relacionada com a idade, sendo elevada nos primeiros anos de vida, seguida de diminuição quando comparada com os indivíduos neurotípicos mais tarde na vida. Estes resultados são compatíveis com aumento da conectividade inicial e posterior diminuição da mesma, uma vez que não se fortalecem corretamente as ligações de longa-distância com o avançar da idade.^{59,63,64,65}

Por fim, apesar da diminuição da conectividade de longa-distância ser uma alteração bem-establishada, o aumento da conectividade estrutural e funcional local não foi descrito sistematicamente, sugerindo que não é uma alteração clara. De facto, o que se verifica nesses casos é um aumento do número relativo das conexões de curta-distância, devido à perda das de longa-distância, sem necessariamente se verificar um incremento do seu valor absoluto.^{48,57,58}

Impacto no Córtex Cerebral

Na PEA, pode-se detetar estrutura cortical desorganizada e nódulos de neurónios distribuídos incorretamente. Ocorrem atipias nos córtices frontal, temporal (especialmente a amígdala e hipocampo), parietal e occipital, neocórtex e corpo estriado.^{28,57}

O córtex frontal é uma das áreas corticais mais frequentemente alteradas. Verificam-se padrões de crescimento cortical atípicos, anomalias na espessura cortical, desorganização de neurónios nas camadas corticais e nas suas conexões com outras regiões cerebrais. Especificamente, ocorre um crescimento precoce aumentado de volume ou número celular durante a infância, seguido de declínio no crescimento e cessação do desenvolvimento mais tardiamente, persistindo na adolescência e vida adulta. Nesta última fase, a espessura cortical pode ser normal, não significando que haja uma normalização estrutural ou funcional, ou pode ainda estar diminuída.^{28,67,68}

Relativamente ao neocórtex, as minicolumnas são estruturas funcionais onde se reúnem conexões aferentes, eferentes e locais de neurónios de projeção piramidais no neocórtex, sendo importantes para a organização cortical. A patologia de minicolumnas pode estar relacionada com macrocefalia, conectividade atípica e desenvolvimento precoce de PEA. No autismo, as minicolumnas são mais pequenas e em maior quantidade, sendo que estas modificações podem ser específicas regionalmente.^{1,30,67,68}

Por outro lado, dificuldades na interação social, previsão de recompensa, memória emocional e reconhecimento facial e emocional na PEA podem ser indicativos de funcionamento alterado da amígdala e estruturas associadas. Em termos do volume da amígdala, estudos diversos apontam para uma variação dependente da idade: aumento de tamanho precoce nos primeiros anos de vida pós-natal (até aos 5 anos), tendo depois um crescimento atrasado e podendo até reverter.¹ Um estudo em modelos animais também verificou que uma subpopulação de neurónios GABAérgicos na porção pósterio-dorsal da amígdala medial promove comportamentos relacionados com agressão e ações pró-sociais, enquanto uma subpopulação glutaminérgica na mesma região promove comportamentos antissociais. Estas duas populações neuronais atuam antagonicamente, sendo este estudo a favor da teoria do desequilíbrio excitatório/inibitório na PEA.^{30,67,68}

No hipocampo, foram descritas várias alterações indicativas de maturação neuronal alterada, como diminuição do tamanho neuronal com aumento da densidade celular, assim como presença de arborização dendrítica menos complexa.^{30,68} Por sua vez, o lobo occipital e a sua relação com outras regiões podem estar alterados igualmente na PEA, influenciado o processamento de informações visuais.⁴¹

Alterações do Cerebelo

Estudos diferentes encontraram modificações volumétricas distintas dos lóbulos do cerebelo. A maioria dos estudos descreve de forma consistente as variações no número, tamanho e/ou densidade das células de Purkinje. O tamanho médio destas células é significativamente inferior, podendo a densidade celular não apresentar alterações significativas, ou existir redução do número total de células. Por outro lado, um estudo demonstrou que os interneurónios que inervam as células de Purkinje não sofrem variações na quantidade. Estes resultados podem significar que o desenvolvimento cerebelar é atípico na PEA: inicialmente há um número e distribuição normais celulares, mas ocorre degeneração posteriormente, provavelmente por volta das 32 semanas de gestação e início da vida pós-natal, cursando com diminuição do número de células de Purkinje e hipoplasia cerebelar, orientação incorreta e presença de astrócitos na matéria branca.^{29,30,67,68}

Default Mode Network

A *default mode network* (DMN) é um sistema cerebral essencial, envolvido em tarefas de processos mentais cognitivos sociais, incluindo o processamento de autorreferenciação (capacidade de processar informações sociais sobre o próprio), processamento autobiográfico e a mentalização ou teoria da mente. Também é útil noutras funções, como divagação do pensamento, iniciação dos pensamentos espontâneos e julgamentos de valor subjetivo.⁴⁸ É composta pelo córtex cingulado posterior (PCC), pré-cúneo, córtex pré-frontal medial (mPFC), junção temporoparietal (TPJ) e hipocampo. O PCC é respeitante ao processamento relevante do próprio e dos outros, particularmente tarefas requerendo a memória autobiográfica e imaginar-se a si mesmo no futuro, assim como avaliar e processar os estados mentais dos outros. O mPFC está associado à monitorização dos estados mentais tanto do próprio como dos outros.^{48,69} A TPJ codifica preferencialmente informações relativas aos estados mentais de outros, ideias sobre os outros e previsão dos seus comportamentos durante interações sociais.^{29,48}

No contexto da DMN, é fulcral ainda definir um outro conceito implicado nas suas tarefas, a teoria da mente, que é deficitária na PEA. Quando o seu funcionamento não está alterado, o indivíduo consegue atribuir estados mentais a si mesmo e a outros. Este sistema de inferências não é diretamente observável, pelo que é necessário a pessoa fazer previsões teóricas acerca do comportamento dos outros, demonstrando assim que

os compreende, nas esferas emocionais, intencionais e de crenças.^{8,48,70} A disrupção da teoria da mente envolve a redução da atividade da TPJ e do mPFC dorsal.⁴⁸

Na PEA, há alteração da ativação dos núdulos implicados na DMN e da conectividade entre os mesmos e outras áreas cerebrais. Alguns estudos sugerem que podem existir diferenças consoante a idade da população estudada: na infância e adolescência os resultados sobre a ativação destas regiões foram variáveis, enquanto os estudos em adultos referem redução da sua atividade. Assim, verificam-se défices não só na teoria da mente, mas também no processamento da autorreferenciação e nos julgamentos do próprio e do outro. Estas alterações terão, por sua vez, influência nos sintomas sociais da PEA.^{15,48}

5. Conclusão

A patogénese das PEA pode iniciar-se em diferentes momentos nos indivíduos afetados e não afeta um único processo. Na sua etiologia, as mutações genéticas e alterações epigenéticas são de importância irrefutável. As modificações imunológicas também constituem um fator de risco importante. Como consequência, ocorrem alterações fisiopatológicas nas vias de sinalização celular, nos neurotransmissores e no desenvolvimento cerebral. A PEA está associada a hiperexpansão da área cortical e aumento do volume cerebral nos 2 primeiros anos de vida. Traduz-se também em redução da conectividade de longa-distância e aumento relativo da local, resultando inevitavelmente em alterações cerebrais nas matérias cinzenta e branca.^{1,10,19,28,29}

Pelo facto de, nos primeiros anos de vida, o cérebro da criança atravessar uma fase de estabelecimento e consolidação de conexões neuronais, a plasticidade neuronal e o potencial de modificação são superiores do que em idades mais avançadas. Portanto, o diagnóstico precoce é fulcral para se iniciar uma terapêutica precoce. Embora o tratamento não permita a cura da PEA, pode reverter parcialmente os sintomas disruptivos e obter melhor controlo das comorbilidades. Sendo esta uma doença contínua, o tratamento precoce condiciona um melhor prognóstico, tendo em vista a maior capacitação dos doentes e melhor qualidade de vida.^{1,19,24,28}

Concluindo, entender a etiologia e fisiopatologia da PEA é essencial, pelo que o estudo desta área deve ser continuado. Uma compreensão extensiva da doença, considerando as etiologias diversas e as vias cruciais para o neurodesenvolvimento, permite o esclarecimento da sintomatologia variada. Desta forma, é possível que a avaliação dos doentes seja mais individualizada, a classificação mais precisa e o diagnóstico mais precoce, auxiliando na decisão terapêutica mais adequada a cada um. Além disso, a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos pode determinar uma alteração do paradigma da terapêutica atual. Podem ser estudados novos alvos terapêuticos de controlo sintomático disruptivo e das comorbilidades. Em última análise, a investigação futura poderá incidir no estudo de uma terapêutica dirigida, que permita atuar nas bases da própria PEA, nomeadamente a terapia genética (que já se encontra em desenvolvimento noutras patologias neurológicas).

6. Agradecimentos

Gostaria de agradecer à Dra. Sofia Quintas pela sua disponibilidade, ajuda e prontidão na orientação do Trabalho Final de Mestrado, especialmente tendo em consideração os constrangimentos deste ano de 2020.

Agradeço igualmente à minha família, que está sempre presente em todas as etapas e de quem nunca me falta o apoio, quer seja presencialmente ou pelas chamadas do costume. E, por fim, aos amigos que nunca falham.

7. Referências

1. Lai, M., Lombardo, M. V., & Baron-Cohen, S. (2014). Autism – Seminar. *Lancet*, 383: 896–910. [https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61539-1](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61539-1)
2. Sanchack, K. E., & Thomas, C. A. (2016). Autism spectrum disorder: Primary care principles. *American Family Physician*, 94(12), 972–979
3. The Limbic Lobe. Em <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/15-3-central-control>
4. Fernandez, B. A., & Scherer, S. W. (2017). Syndromic autism spectrum disorders: moving from a clinically defined to a molecularly defined approach. *Dialogues Clin Neurosci.*, 19:353-371
5. American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
6. Autism Speaks. Em <https://www.autismspeaks.org>
7. World Health Organization (2019). International statistical classification of diseases and related health problems (11th ed.). <https://icd.who.int/>
8. Oerlemans, A. M., Rommelse, N. N. J., Buitelaar, J. K., & Hartman, C. A. (2018). Examining the intertwined development of prosocial skills and ASD symptoms in adolescence. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 27(8), 1033–1046. <https://doi.org/10.1007/s00787-018-1114-3>
9. Yuen, R. K., Merico, D., Bookman, M., et al. (2017). Whole genome sequencing resource identifies 18 new candidate genes for autism spectrum disorder. *Nat Neurosci.*, 20(4):602-611
10. Eissa, N., Al-Houqani, M., Sadeq, A., Ojha, S. K., Sasse, A., & Sadek, B. (2018). Current enlightenment about etiology and pharmacological treatment of autism

spectrum disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 12(MAY).
<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00304>

11. American Academy of Family Physicians. Autism. Em <https://familydoctor.org/condition/autism/>

12. Elsabbagh, M., Divan, G., Koh, Y. J., Kim, Y. S., Kauchali, S., Marcín, C., Montiel-Nava, C., Patel, V., Paula, C. S., Wang, C., Yasamy, M. T., & Fombonne, E. (2012). Global Prevalence of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders. *Autism Research*, 5(3), 160–179. <https://doi.org/10.1002/aur.239>

13. Autism Society. Em <https://www.autism-society.org>

14. Centers for Disease Control and Prevention. Autism Spectrum Disorder (ASD). Em <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/index.html>

15. Gao, Y., Linke, A., Jao Keehn, R. J., Punyamurthula, S., Jahedi, A., Gates, K., Fishman, I., & Müller, R. A. (2019). The language network in autism: Atypical functional connectivity with default mode and visual regions. *Autism Research*, 12(9), 1344–1355. <https://doi.org/10.1002/aur.2171>

16. Autism: Fitting the Pieces Together. (2015). *EBioMedicine*, 2(4), 273. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.03.014>

17. Agrawal, S., Rao, S. C., Bulsara, M. K., & Patole, S. K. (2018). Prevalence of autism spectrum disorder in preterm infants: A meta-analysis. *Pediatrics*, 142(3), e20180134

18. Sysoeva, O. V., Constantino, J. N., & Anokhin, A. P. (2018). Event-related potential (ERP) correlates of face processing in verbal children with autism spectrum disorders (ASD) and their first-degree relatives: A family study. *Molecular Autism*, 9(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13229-018-0220-x>

19. Subramanyam AA, Mukherjee A, Dave M, Chavda K. (2019). Clinical Practice Guidelines for Autism Spectrum Disorders. *Indian J Psychiatry*, 61(Suppl 2):254-269. doi:10.4103/psychiatry.IndianJPsychiatry_542_18

20. Hain, T. C. (2019). Cerebellar Disorders. Em <https://www.dizziness-and-balance.com/disorders/central/cerebellar/cerebellar.htm>

21. Monteiro, P. *Psicologia e Psiquiatria da Infância e Adolescência*. Lisboa: Lidel; 2014

22. Neurotransmitter glossary. Em <https://www.brainfacts.org/Glossary>

23. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Autism Spectrum Disorder. Em https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Fact-Sheets/Autism-Spectrum-Disorder-Fact-Sheet#3082_1
24. Direção Geral da Saúde. Abordagem Diagnóstica e Intervenção na Perturbação do Espectro do Autismo em Idade Pediátrica e no Adulto. Em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0022019-de-23042019-pdf.aspx>
25. Gernsbacher, M. A., Stevenson, J. L., & Dern, S. (2017). Specificity, contexts, & reference groups matter when assessing autistic traits. *PLoS ONE*, 12(2), 1–30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171931>
26. Mugzach, O., Peleg, M., Bagley, S. C., Guter, S. J., Cook, E. H., & Altman, R. B. (2015). An ontology for Autism Spectrum Disorder (ASD) to infer ASD phenotypes from Autism Diagnostic Interview–Revised data. *J Biomed Inform*, 56: 333–347. doi:10.1016/j.jbi.2015.06.026
27. Wegiel, J., Kaczmarek, W., Flory, M., Martinez-Cerdeno, V., Wisniewski, T., Nowicki, K., Kuchna, I., & Wegiel, J. (2018). Deficit of corpus callosum axons, reduced axon diameter and decreased area are markers of abnormal development of interhemispheric connections in autistic subjects. *Acta Neuropathologica Communications*, 6(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0645-7>
28. Courchesne, E., Pramparo, T., Gazestani, V. H., Lombardo, M. V., Pierce, K., & Lewis, N. E. (2019). The ASD Living Biology: from cell proliferation to clinical phenotype. *Molecular Psychiatry*, 24(1), 88–107. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0056-y>
29. Igelström, K. M., Webb, T. W., & Graziano, M. S. A. (2017). Functional connectivity between the temporoparietal cortex and cerebellum in autism spectrum disorder. *Cerebral Cortex*, 27(4), 2617–2627. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw079>
30. Wang, S. S.-H., Kloth, A. D., & Badura, A. (2014). The Cerebellum, Sensitive Periods, and Autism. *Neuron*, 83(3): 518–532. doi:10.1016/j.neuron.2014.07.016
31. Carmassi, C., Palagini, L., Caruso, D., Masci, I., Nobili, L., Vita, A., & Dell’Osso, L. (2019). Systematic review of sleep disturbances and circadian sleep desynchronization in autism spectrum disorder: Toward an integrative model of a self-reinforcing loop. *Frontiers in Psychiatry*, 10(JUN). <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00366>

32. Simons Foundation Autism Research Initiative. SFARI Gene. Em <https://www.sfari.org/resource/sfari-gene/>
33. Lyall, K., Croen, L., Daniels, J., Fallin, M. D., Ladd-Acosta, C., Lee, B. K., Park, B. Y., Snyder, N. W., Schendel, D., Volk, H., Windham, G. C., & Newschaffer, C. (2017). The Changing Epidemiology of Autism Spectrum Disorders. *Annu Rev Public Health*, 38: 81–102. doi:10.1146/annurev-publhealth-031816-044318
34. Hyman, S. E. Neurotransmitters. Harvard University. Em <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0960-9822%2805%2900208-3>
35. Sahin, M., & Sur, M. (2015). Genes, circuits, and precision therapies for autism and related neurodevelopmental disorders. *Science*, 350
36. Kalkman, H. O. (2012). A review of the evidence for the canonical Wnt pathway in autism spectrum disorders. *Mol Autism*, 3:10
37. Piven, J., Elison, J. T., & Zylka, M. J. (2017). Toward a conceptual framework for early brain and behavior development in Autism. *Molecular Psychiatry*, 22(10), 1–10. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.131>
38. Kriegstein, A. & Alvarez-Buylla, A. (2009). The Glial Nature of Embryonic and Adult Neural Stem Cells. *Annual Review of Neuroscience*, 32(1), pp. 149–184
39. Dehay, C., & Kennedy, H. (2007). Cell-cycle control and cortical development. *Nat Rev Neurosci*, 8:438–50
40. Zhang, J., Shemezis, J. R., McQuinn, E. R., Wang, J., Sverdlov, M., & Chenn, A. (2013). AKT activation by N-cadherin regulates beta-catenin signaling and neuronal differentiation during cortical development. *Neural Dev*, 8:7
41. Boitard, M., Bocchi, R., Egervari, K., Petrenko, V., Viale, B., Gremaud, S., et al. (2015). Wnt signaling regulates multipolar-to-bipolar transition of migrating neurons in the cerebral cortex. *Cell Rep*, 10:1349–61
42. Jansen, L. A., Mirzaa, G. M., Ishak, G. E., O’Roak, B. J., Hiatt, J. B., Roden, W. H., et al. (2015). PI3K/AKT pathway mutations cause a spectrum of brain malformations from megalencephaly to focal cortical dysplasia. *Brain*, 138 (Pt 6):1613–28
43. Casanova, M. F., El-Baz, A. S., Kamat, S. S., Dombroski, B. A., Khalifa, F., Elnakib, A., et al. (2013). Focal cortical dysplasias in autism spectrum disorders. *Acta Neuropathol Commun*, 1:67
44. Rosso, S. B., & Inestrosa, N. C. (2013). WNT signaling in neuronal maturation and synaptogenesis. *Front Cell Neuroscience*, 7:103

45. Bethea, T. C., & Sikich, L. (2007). Early pharmacological treatment of autism: a rationale for developmental treatment. *Biol Psychiatry*, 61(4): 521–537. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.09.021
46. Asian Journal of Neurosurgery. Em
http://www.asianjns.org/viewimage.asp?img=AsianJNeurosurg_2018_13_2_507_22853_5_f2.jpg
47. Meltzer, A., & Water, J. V. (2017). The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 42, 284–298. doi: 10.1038/npp.2016.158
48. Padmanabhan, A., Lynch, C. J., Schaer, M., & Menon, V. (2017). The Default Mode Network in Autism. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*, 2(6): 476–486. doi: 10.1016/j.bpsc. 2017.04.004
49. Hellmer, K., & Nyström, P. (2017). Infant acetylcholine, dopamine, and melatonin dysregulation: neonatal biomarkers and causal factors for ASD and ADHD phenotypes. *Med. Hypotheses*, 100, 64–66. doi: 10.1016/j.mehy.2017.01.015
50. Paval, D. (2017). A dopamine hypothesis of autism spectrum disorder. *Dev. Neurosci.*, 39, 355–360. doi: 10.1159/000478725
51. Veatch, O. J., Pendergast, J. S., Allen, M. J., Leu, R. M., Johnson, C. H., Elsea, S. H., et al. (2015). Genetic variation in melatonin pathway enzymes in children with autism spectrum disorder and comorbid sleep onset delay. *J Autism Dev Disord*, 45(1):100–10. doi: 10.1007/s10803-014-2197-4
52. Veenstra-VanderWeele, J., Muller, C. L., Iwamoto, H., Sauer, J. E., Owens, W. A., Shah, C. R., et al. (2012). Autism gene variant causes hyperserotonemia, serotonin receptor hypersensitivity, social impairment and repetitive behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 109, 5469–5474. doi: 10.1073/pnas.1112345109
53. Nakai, N., Nagano, M., Saitow, F., Watanabe, Y., Kawamura, Y., Kawamoto, A., et al. (2017). Serotonin rebalances cortical tuning and behavior linked to autism symptoms in 15q11-13 CNV mice. *Sci. Adv.*, 3:e1603001. doi: 10.1126/sciadv.1603001
54. Di, J., Li, J., O'Hara, B., Alberts, I., Xiong, L., Li, J., & Li, X. (2020). The role of GABAergic neural circuits in the pathogenesis of autism spectrum disorder. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 80(2), 73–85. <https://doi.org/10.1002/jdn.10005>
55. Blanken, L. M. E., Dass, A., Alvares, G., van der Ende, J., Schoemaker, N. K., El Marroun, H., Hickey, M., Pennell, C., White, S., Maybery, M. T., Dissanayake, C.,

Jaddoe, V. W. V., Verhulst, F. C., Tiemeier, H., McIntosh, W., White, T., & Whitehouse, A. (2018). A prospective study of fetal head growth, autistic traits and autism spectrum disorder. *Autism Research*, 11(4), 602–612. <https://doi.org/10.1002/aur.1921>

56. Courchesne, E., Campbell, K., & Solso, S. (2011). Brain growth across the life span in autism: Age-specific changes in anatomical pathology. *Brain Research*, 1380, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.101>

57. O'Reilly, C., Lewis, J. D., & Elsabbagh, M. (2017). Is functional brain connectivity atypical in autism? A systematic review of EEG and MEG studies. *PLoS ONE*, 12(5), 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175870>

58. Noriuchi, M., Kikuchi, Y., Yoshiura, T., Kira, R., Shigeto, H., Hara, T., Tobimatsu, S., & Kamio, Y. (2010). Altered white matter fractional anisotropy and social impairment in children with autism spectrum disorder. *Brain Research*, 1362, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.051>

59. Li, Y., Zhou, Z., Chang, C., Qian, L., Li, C., Xiao, T., Xiao, X., Chu, K., Fang, H., & Ke, X. (2019). Anomalies in uncinate fasciculus development and social defects in preschoolers with autism spectrum disorder. *BMC Psychiatry*, 19(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12888-019-2391-1>

60. Hofer, S. & Frahm, J. (2006). Topography of the human corpus callosum revisited-comprehensive fiber tractography using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *NeuroImage* 32:989-994

61. Wegiel, J., Flory, M., Kaczmarek, W., Brown, W. T., Chadman, K., Wisniewski, T. et al. (2017). Partial agenesis and hypoplasia of the corpus callosum in idiopathic autism. *J Neuropathol Exp Neurol*, 76:225–237

62. Prigge, M. B. D., Lange, N., Bigler, E. D., Merkley, T. L., Neeley, E. S., Abildskov, T. J. et al. (2013). Corpus callosum area in children and adults with autism. *Res Autism Spectr Disord*, 7:221–234

63. Im, W. Y., Ha, J. H., Kim, E. J., Cheon, K. A., Cho, J., & Song, D. H. (2018). Impaired white matter integrity and social cognition in high-function autism: Diffusion tensor imaging study. *Psychiatry Investigation*, 15(3), 292–299. <https://doi.org/10.30773/pi.2017.08.15>

64. Fitzgerald, J., Leemans, A., Kehoe, E., O'Hanlon, E., Gallagher, L., & McGrath, J. (2017). Abnormal fronto-parietal white matter organisation in the superior

longitudinal fasciculus branches in autism spectrum disorders. *European Journal of Neuroscience*, Volume 47, Issue 6. <https://doi.org/10.1111/ejn.13655>

65. Boets, B., Van Eylen, L., Sitek, K., Moors, P., Noens, I., Steyaert, J., Sunaert, S., & Wagemans, J. (2018). Alterations in the inferior longitudinal fasciculus in autism and associations with visual processing: A diffusion-weighted MRI study. *Molecular Autism*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13229-018-0188-6>

66. Hau, J., Aljawad, S., Baggett, N., Fishman, I., Carper, R. A., & Müller, R. A. (2019). The cingulum and cingulate U-fibers in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Human Brain Mapping*, 40(11), 3153–3164. <https://doi.org/10.1002/hbm.24586>

67. Donovan, A. P. A., & Basson, M. A. (2017). The neuroanatomy of autism – a developmental perspective. *Journal of Anatomy*, 230(1), 4–15. <https://doi.org/10.1111/joa.12542>

68. Varghese, M., Keshav, N., Jacot-Descombes, S., Warda, T., Wicinski, B., Dickstein, D. L., Harony-Nicolas, H., De Rubeis, S., Drapeau, E., Buxbaum, J. D., & Hof, P. R. (2017). Autism spectrum disorder: neuropathology and animal models. *Acta Neuropathologica*, 134(4), 537–566. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1736-4>

69. Murphy, C. M., Christakou, A., Giampietro, V., Brammer, M., Daly, E. M., Ecker, C., Johnston, P., Spain, D., Robertson, D. M., Murphy, D. G., & Rubia, K. (2017). Abnormal functional activation and maturation of ventromedial prefrontal cortex and cerebellum during temporal discounting in autism spectrum disorder. *Human Brain Mapping*, 38(11), 5343–5355. <https://doi.org/10.1002/hbm.23718>

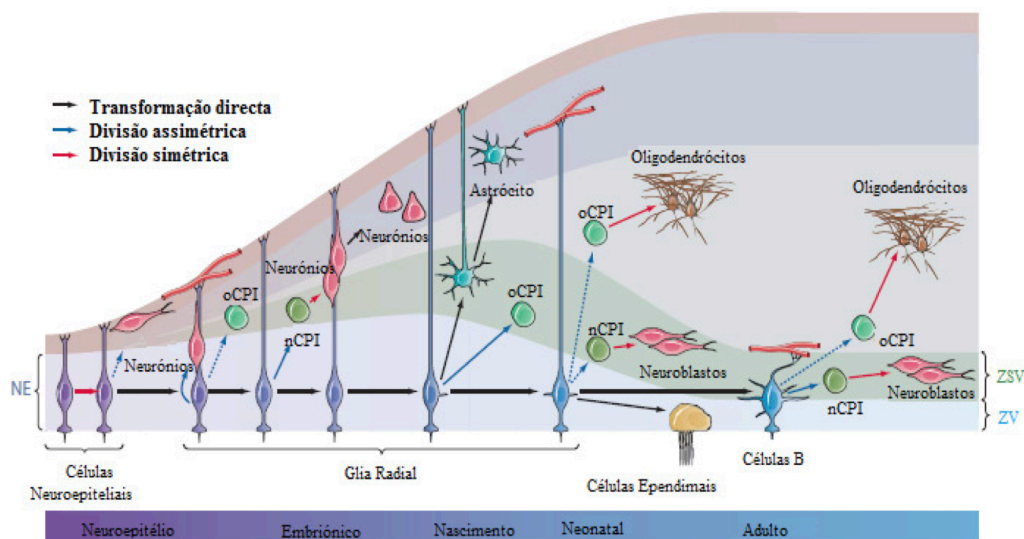
70. Kumazaki, T. (2016). Theory of mind and Verstehen (understanding) methodology. *History of Psychiatry*, 27(3), 253–267. <https://doi.org/10.1177/0957154X16650791>

8. Anexos

Anexo 1

Figura 1. Etapas de diferenciação das células gliais radiais. (Imagem adaptada de Kriegstein, A. & Alvarez-Buylla, A., 2009)³⁸

O aumento da quantidade de neurónios depende de vários fatores envolvidos no desenvolvimento cerebral. As células precursoras gliais radiais (CGR) podem dividir-se simétrica ou assimetricamente: as divisões simétricas resultam em duas CGR iguais, enquanto as assimétricas produzem uma CGR e uma outra célula, que se pode diferenciar num neurónio ou tornar-se numa célula progenitora intermediária (CPI). A última percorre entre 1 a 3 ciclos celulares até se diferenciar em neurónios (nCPI), oligodendrócitos (oCPI) ou astrócitos (aCPI). Portanto, a diferenciação dos precursores celulares em neurónios ocorre mais precocemente do que em células da glia.^{38,39}



Anexo 2

Tabela 1. Funções das vias de sinalização celular passíveis de sofrer alterações na PEA.

Estas vias estão intimamente interligadas e envolvidas em diferentes fases do desenvolvimento cerebral (tanto fetal como início da vida pós-natal).^{28,35,36}

	RAS/ERK	PI3K/AKT	WNT ou β -catenina
Proliferação das células gliais radiais	✓	✓	✓
Diferenciação das células progenitoras intermediárias			✓
Determinação da especificação celular	✓	✓	
Migração neuronal		✓	
Crescimento de dendrites e axónios	✓		✓
Sinaptogénese e função sináptica	✓	✓	✓

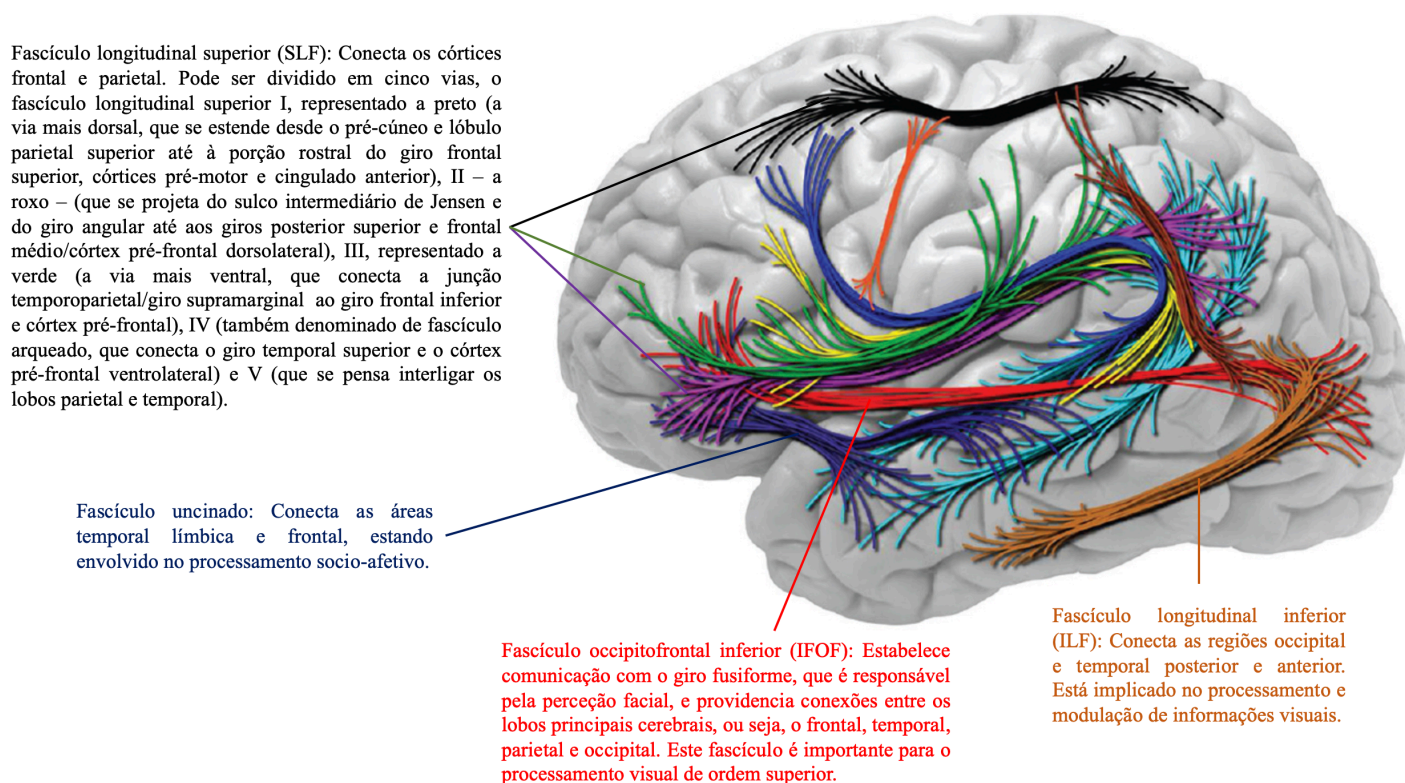
Anexo 3

Tabela 2. Considerações importantes sobre os neurotransmissores que foram associados a alterações na PEA.^{22,34,45}

Neurotransmissor	Funções
Acetilcolina	Atua nos sistemas nervosos central, periférico e autônomo. Controla várias funções, como, por exemplo, a atividade muscular, a aprendizagem, a memória, a flexibilidade cognitiva, a promoção do sono REM, o estado de alerta após acordar e a atenção. Os seus valores aumentam gradualmente na primeira década de vida, estabilizando depois.
Dopamina	É uma catecolamina, que exerce o seu efeito ao ligar-se aos recetores de superfície celular: D1 e D5, que aumentam os níveis intracelulares de cAMP; D2, D3 e D4, que causam a sua redução; TAAR1, que aumenta o cAMP e o cálcio intracelular. Controla competências comportamentais do tipo funcionamento executivo (como análise, planeamento e priorização), o movimento, a motivação, a recompensa e alguns aspetos da cognição relacionados com o prazer.
GABA	A sua função como neurotransmissor no cérebro maturo é de inibição de sinapses, podendo ser distinguidos os recetores GABA-A e GABA-B. Contudo, durante o desenvolvimento cerebral (previamente à maturação das sinapses glutamérgicas), desempenha o papel tanto inibitório como excitatório. Nesta fase, regula a proliferação neuronal, a migração celular, diferenciação, desenvolvimento de dendrites e axónios e formação de sinapses.
Glutamato	É o neurotransmissor excitatório predominante dos neurónios, tendo os recetores AMPA, NMDA e kainate. Está implicado em várias atividades, que incluem a aprendizagem e a memória, assim como o desenvolvimento e a especificação das conexões neuronais durante o desenvolvimento cerebral.
Histamina	Tem várias funções no corpo humano. A nível cerebral, funciona como um neurotransmissor que regula o ciclo de sono-vigília, promovendo a vigília quando ativado.
Melatonina	Hormona produzida na glândula pineal, que regula as respostas do ritmo circadiano e induz o sono durante a noite.
Serotonina	É um neurotransmissor monoaminérgico, que tem, entre outros, impacto na função sensoriomotora, regulação do humor e emoções. No desenvolvimento cerebral, foi associado à neurogénese, migração celular, sinaptogénese e plasticidade sináptica.

Anexo 4

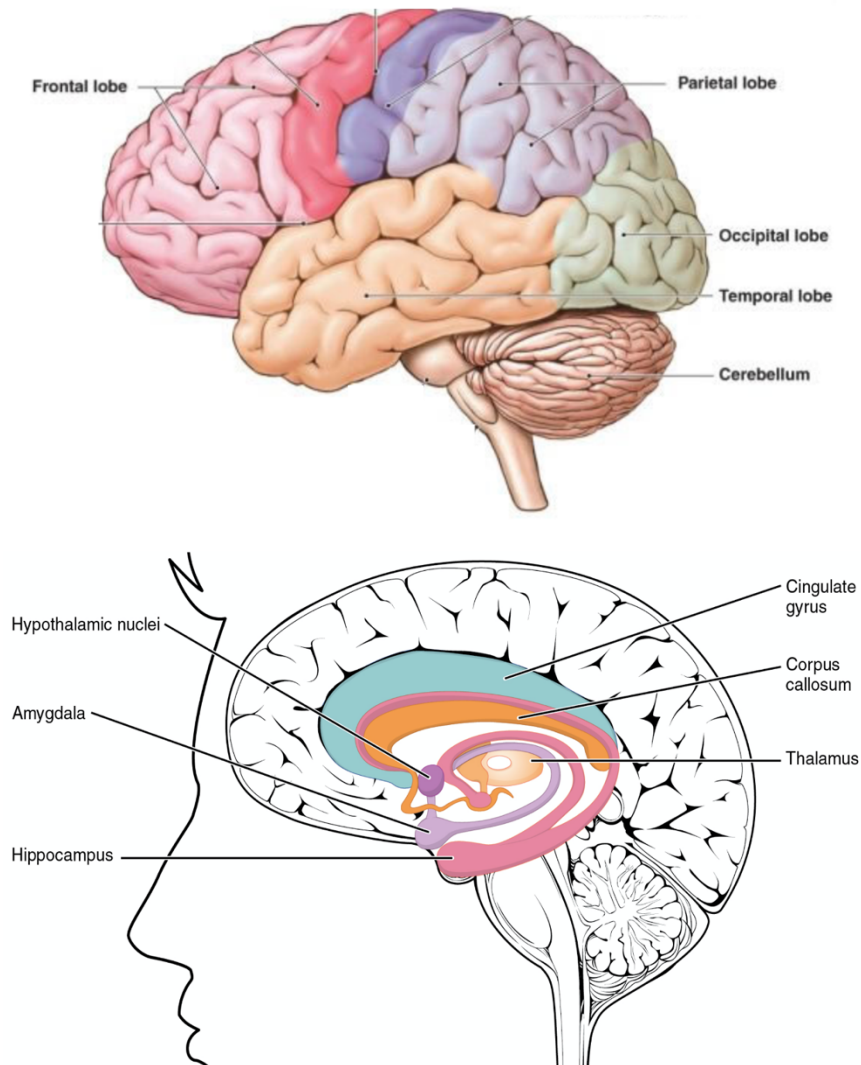
Figura 2. As principais fibras de associação inter-hemisféricas (matéria branca) no contexto da PEA. (Imagem retirada de Asian Journal of Neurosurgery, 2020)^{46,59,63,64,65}



Figuras 3 e 4. Áreas da matéria branca e cinzenta que estão associadas a alterações na PEA. (Imagens adaptadas de Hain, T.C., 2019; e Betts, J.G., Desaix, P., et al., 2012, respetivamente)^{3,20}

Amígdala (*amygdala*): Desempenha funções no processamento emocional, incluindo o medo, prazer e agressão.^{67,68} Cerebelo (*cerebellum*): Para além do papel bem-establishado no equilíbrio, postura, controlo motor fino e proprioceção, esta estrutura desempenha papéis relevantes nas funções cerebrais superiores. Assim, tem funções em vários estímulos, tanto sensoriais e motores, como cognitivos e afetivos.⁶⁸ Corpo caloso (*corpus callosum*): A maior comissura cerebral humana. Faz conexões inter-hemisféricas de longo alcance que integram e sincronizam funcional e anatomicamente os córtices especializados. Por exemplo, as suas fibras projetam-se para áreas corticais relevantes no processamento visual e de atenção, incluindo os córtices parietal posterior e occipital. As fibras do corpo caloso dividem-no ântero-posteriormente em 5 segmentos (segundo Hofer e Frahm), com projeções axonais pela linha média cerebral de neurónios dos córtices pré-frontal (SI), pré-motor e motor suplementar (SII), motor (SIII), somatossensorial (SIV) e parietal, occipital e temporal (SV).^{27,37,60} Córtex frontal (*frontal lobe*): Controla várias funções executivas cerebrais, incluindo os processos cognitivos de ordem superior, tais como a toma de decisões, planeamento, memória de trabalho, emoções, comportamento social, aprendizagem e

comunicação.^{67,68} Córtex occipital (*occipital lobe*): Relevante para o processamento de informações visuais.⁴¹ Giro cingulado (*cingulate gyrus*): Faz a comunicação para o lobo temporal medial internamente e outras áreas cerebrais. Importante para funções emocionais e sociais.^{57,66} Hipocampo (*hippocampus*): Tem funções de consolidação da memória, e também comportamentais e sociais.^{30,68}



Anexo 5

Tabela 3. Etapas do desenvolvimento neuronal em que atuam 60 dos genes associados à perturbação do espectro do autismo:^{19,28,31}

	Proliferação/ neurogénese neuronal ou glia	Especificação/ Migração Celular	Crescimento de dendrites e axónios	Função sináptica e sinaptogénese
<i>ADNP</i>			✓	✓
<i>ANK2</i>			✓	✓
<i>ANKRD11</i>	✓	✓		
<i>ARID1B</i>	✓		✓	✓
<i>ASH1L</i>	✓			✓
<i>BCL11A</i>		✓		
<i>CACNA1H</i>			✓	✓
<i>CACNA2D3</i>	✓			✓
<i>CHD2</i>	✓			
<i>CHD8</i>	✓			✓
<i>CNTN4</i>			✓	
<i>CNTNAP2</i>		✓	✓	✓
<i>CTNND2</i>	✓		✓	✓
<i>CUL3</i>	✓	✓	✓	
<i>DEAF1</i>	✓			✓
<i>DIP2A</i>			✓	
<i>DSCAM</i>			✓	✓
<i>DYRK1A</i>	✓		✓	✓
<i>ERBIN</i>	✓			✓
<i>FMR1</i>		✓	✓	✓
<i>FOXG1</i>		✓		
<i>FOXP1</i>		✓	✓	
<i>GABRB3</i>				✓
<i>GRIN2B</i>				✓
<i>GRIP1</i>			✓	✓
<i>INTS6</i>	✓		✓	
<i>KAT2B</i>	✓	✓	✓	✓
<i>KDM5B</i>	✓	✓		

<i>KDM6B</i>	✓			✓
<i>KMT2A</i>	✓			✓
<i>KMT2E</i>	✓			
<i>KMT5B</i>	✓			
<i>KMT5C</i>	✓			
<i>MAGEL2</i>			✓	
<i>MBOAT7</i>		✓	✓	
<i>MECP2</i>	✓	✓	✓	✓
<i>MET</i>	✓	✓	✓	✓
<i>MSNP1AS</i>			✓	
<i>MYT1L</i>	✓			
<i>NCKAP1</i>		✓	✓	
<i>NF1</i>				✓
<i>NLGN3</i>	✓		✓	✓
<i>NRXN1</i>			✓	✓
<i>POGZ</i>	✓		✓	
<i>PTEN</i>	✓	✓	✓	✓
<i>RELN</i>		✓	✓	✓
<i>RIMS1</i>				✓
<i>SCN2A</i>				✓
<i>SETD5</i>	✓			
<i>SHANK2</i>				✓
<i>SHANK3</i>	✓		✓	✓
<i>SLC6A1</i>				✓
<i>SPAST</i>	✓		✓	
<i>SYNGAP1</i>			✓	✓
<i>TBR1</i>		✓		
<i>TCF7L2</i>	✓			
<i>TRIP12</i>	✓			
<i>USP7</i>	✓			✓
<i>WAC</i>	✓			
<i>WDFY3</i>	✓	✓	✓	✓